



① BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 198 12 083 A 1**

⑤ Int. Cl.⁶:
B 01 J 13/02
A 61 K 9/50
B 01 J 35/00
B 01 J 33/00
C 12 N 11/00

⑲ Aktenzeichen: 198 12 083.4
⑳ Anmeldetag: 19. 3. 98
㉑ Offenlegungstag: 30. 9. 99

DE 198 12 083 A 1

⑦ Anmelder:
Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der
Wissenschaften e.V., 80539 München, DE

⑧ Vertreter:
H. Weickmann und Kollegen, 81679 München

⑦ Erfinder:
Donath, Edwin, Dr., 16845 Giesenhorst, DE;
Sukhorukov, Gleb, Dr., Microraion, RU; Lerche, Karl,
Dr., 10243 Berlin, DE

⑤ Entgegenhaltungen:
US 54 87 390
US 40 87 376
US 40 01 140

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑥ Herstellung von Nano- und Mikrokapseln durch schichtweise Polyelektrolyt-Selbstassemblierung

⑦ Die Erfindung betrifft Nano- bzw. Mikrokapseln mit ei-
ner Polyelektrolythülle und einem Durchmesser < 10 µm.

DE 198 12 083 A 1

BEST AVAILABLE COPY

Beschreibung

Die Erfindung betrifft Nano- bzw. Mikrokapseln, die eine Polyelektrolythülle umfassen, ein Verfahren zur Herstellung dieser Kapseln sowie ihre Verwendung.

Mikrokapseln sind in verschiedenen Ausführungsformen bekannt und werden insbesondere für die kontrollierte Freisetzung und den zielgerichteten Transport von pharmazeutischen Wirkstoffen sowie zum Schutz von empfindlichen Wirkstoffen, wie etwa Enzymen und Proteinen verwendet (siehe z. B. D. D. Lewis, "Biodegradable Polymers and Drug Delivery Systems", M. Chasin and R. Langer, Hrsg. (Marcel Decker, New York, 1990); J. P. McGee et al., J. Control. Release 34 (1995), 77).

Mikrokapseln können durch mechanisch-physikalische Verfahren, wie z. B. Versprühen und nachfolgende Beschichtung hergestellt werden. Die auf diese Weise erhältlichen Mikrokapseln weisen jedoch eine Reihe von Nachteilen auf. Insbesondere ist es mit den bekannten mechanisch-physikalischen Verfahren nicht möglich, Mikrokapseln mit einer Größe von $< 10 \mu\text{m}$ (Durchmesser) herzustellen. Vielmehr sind nur Mikrokapseln mit relativ großen Durchmessern erhältlich, deren Anwendungsbereich jedoch aufgrund ihrer Größe beschränkt sind. Weiterhin wird bei den bekannten mechanisch-physikalischen Verfahren keine monodisperse Kapselverteilung, sondern vielmehr eine uneinheitliche Verteilung von Kapseln verschiedener Größe erhalten. Auch dies ist für viele Anwendungen, bei denen die Größe der Kapsel wichtig ist, nachteilig.

Neben den mechanisch-physikalischen Verfahren sind auch chemische Verfahren zur Herstellung von Mikrokapseln bekannt. So können Mikrokapseln durch Grenzflächenpolymerisation bzw. -kondensation oder durch Polymerphasentrennung aus einem Polymer/Lösungsmittelgemisch hergestellt werden (B. Miksa et al., Colloid Polym. Sci. 273 (1995), 47; G. Crotts et al., J. Control. Release 35 (1995), 91; S. L. Regen et al., J. Am. Chem. Soc. 106 (1984), 5756). Aber auch die durch bekannte chemische Verfahren hergestellten Mikrokapseln weisen eine Reihe von Nachteilen auf. Insbesondere sind eine hohe Polydispersität, eine ungleichmäßige Umhüllung sowie oftmals eine Verfestigung des Kerns zu beobachten. Ein weiterer wesentlicher Nachteil der bekannten chemischen Verfahren liegt in der Verwendung von organischen Lösungsmitteln und polymerisierbaren organischen Monomeren, was zu beträchtlichen Beschränkungen hinsichtlich der verwendbaren einzukapselnden Wirkstoffe führt. Insbesondere die oftmals dadurch notwendige Verwendung von mit Wasser nicht mischbaren organischen Flüssigkeiten als Kernmaterial schränkt den Anwendungsbereich solcher Mikrokapseln, gerade im Hinblick auf Proteine oder Enzyme drastisch ein.

Ein weiteres System, das zur Einkapselung von anorganischen und organischen Materialien verwendet wurde, sind Lipidliposomen (D. D. Lasic, "Liposomes: From Physics to Applications" (Elsevier, Amsterdam, 1993); S. L. Regen et al., J. Am. Chem. Soc. 106 (1984), 2446). Die Einkapselung von Wirkstoffen in Lipidliposomen gestattet die Herstellung von Mikrokapseln unter relativ schonenden Bedingungen, weshalb Liposomen als Trägersysteme für verschiedene pharmazeutische und kosmetische Wirkstoffe verwendet werden. Die biologische, chemische und mechanische Stabilität solcher Liposomkapseln ist jedoch sehr gering, was die allgemeine Verwendbarkeit solcher Kapseln limitiert. Einen weiteren Nachteil stellt die geringe Permeabilität von Liposomenkapseln, insbesondere für polare Moleküle, dar, die einen Stoffaustausch mit dem Umgebungsmedium verhindert.

Bei einem weiteren Verfahren zur Herstellung von Mikro-

kapseln werden zunächst Mischungen aus dem einzuschließenden Material und einem mit z. B. Ca^{2+} -Ionen verfestigbaren Polyelektrolythbestandteil gebildet. Diese Mischung wird in Form kleinster Tröpfchen in ein Ca^{2+} -Bad eingebracht, wobei sich eine Gelstruktur bildet, die dann in weiteren Verfahrensschritten mit einer Polyelektrolytkapsel umgeben werden kann. Eine Weiterentwicklung solcher Verfahren wird in DE 33 06 259 A1 beschrieben, wobei auf die Verwendung von Ca^{2+} verzichtet werden kann. Der hauptsächlichste Nachteil dieser Verfahren besteht darin, daß die Größe der herstellbaren Mikrokapseln nach unten auf etwa $50 \mu\text{m}$ (Durchmesser) begrenzt ist und die Wandstärke der erhaltenen Mikrokapseln mindestens 100 nm beträgt.

Eine Aufgabe der Erfindung bestand deshalb darin, Kapseln mit einem geringen Durchmesser bereitzustellen, in denen wasserlösliches Material, wie etwa Makromoleküle oder Präzipitate eingeschlossen werden können. Die Kapseln sollten weiterhin eine hohe Stabilität und Hüllen mit geringer Wandstärke aufweisen, die insbesondere für Ionen und kleine Moleküle durchlässig sind.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch Kapseln mit einer Polyelektrolythülle und einem Durchmesser $< 10 \mu\text{m}$.

Überraschenderweise wurde festgestellt, daß unter Verwendung einer Polyelektrolythülle Kapseln mit definierten inneren und äußeren Hülleigenschaften und mit selektiv steuerbaren Permeabilitätseigenschaften erhalten werden können. Unter einer Polyelektrolythülle wird eine Hülle mit einem Gehalt an Polyelektrolyten verstanden. Bevorzugt besteht die Polyelektrolythülle zu mindestens 50% insbesondere mindestens 60% und besonders bevorzugt zu mindestens 80% aus Polyelektrolyten. Die erfindungsgemäßen Kapseln gestatten den Einschluß auch empfindlicher Moleküle unter schonenden Bedingungen, z. B. in wäßrigen Lösungen. Die erfindungsgemäßen Kapseln weisen als Kapselwand eine Polyelektrolythülle auf, die den Stoffaustausch im Hinblick auf niedermolekulare Stoffe und Ionen mit der Umgebung ermöglicht, aber gleichzeitig makromolekulare Stoffe zurückhält. Diese Trennfunktion der Polyelektrolythülle bewirkt einerseits, daß gegebenenfalls in die Kapsel eingeschlossene Wirkstoffe zurückgehalten werden, andererseits, daß von außen keine störenden makromolekularen Stoffe in die Kapsel gelangen können. Auf diese Weise werden Wirkstoffe auch ohne den Zusatz von konservierenden Stoffen effektiv vor biologischen Abbauprozessen geschützt. Die chemischen und physikalischen Eigenschaften der als Kapselwand dienenden Polyelektrolythülle können in weiten Grenzen durch den Aufbau und die Zusammensetzung der Hülle sowie durch Umgebungsparameter gesteuert werden. So können die erfindungsgemäßen Kapseln beispielsweise als Transporträume dienen, wobei hier die Parameter der äußeren Schicht den Transport an vorgegebene Zielorte, z. B. im Organismus, bestimmen.

Die erfindungsgemäßen Kapseln umfassen Mikrokapseln mit einem Durchmesser von $1 \mu\text{m}$ bis $< 10 \mu\text{m}$, bevorzugt $\leq 5 \mu\text{m}$ und am meisten bevorzugt $\leq 2 \mu\text{m}$ sowie Nanokapseln mit einem Durchmesser von $\geq 10 \text{ nm}$ bis $< 1000 \text{ nm}$.

Die Hülle der Kapseln umfaßt bevorzugt mehrere Polyelektrolytschichten, d. h. die Kapseln umfassen eine schichtweise aufgebaute Polyelektrolythülle. Unter Polyelektrolyten werden allgemein Polymere mit ionisch dissoziierbaren Gruppen, die Bestandteil oder Substituent der Polymerkette sein können, verstanden. Üblicherweise ist die Zahl dieser ionisch dissoziierbaren Gruppen in Polyelektrolyten so groß, daß die Polymeren in der dissoziierten Form (auch Polymionen genannt) wasserlöslich sind. Hierin werden unter dem Begriff Polyelektrolyte auch Ionomere verstanden, bei

denen die Konzentration der ionischen Gruppen für eine Wasserlöslichkeit nicht ausreichend sind, die jedoch genügend Ladungen aufweisen, um eine Selbstassemblierung einzugehen. Bevorzugt umfasst die Hülle "echte" Polyelektrolyte. Je nach Art der dissoziierbaren Gruppen werden Polyelektrolyte in Polysäuren und Polybasen unterteilt. Aus Polysäuren entstehen bei der Dissoziation unter Abspaltung von Protonen Polyanionen, die sowohl anorganische als auch organische Polymere sein können. Beispiele für Polysäuren sind Polyphosphorsäure, Polyvinylschwefelsäure, Polyvinylsulfonsäure, Polyvinylphosphonsäure und Polyacrylsäure. Beispiele für die entsprechenden Salze, die auch als Polysalze bezeichnet werden, sind Polyphosphat, Polysulfat, Polysulfonat, Polyphosphonat und Polyacrylat.

Polybasen enthalten Gruppen, die in der Lage sind, Protonen, z. B. durch Reaktion mit Säuren unter Salzbildung, aufzunehmen. Beispiele für Polybasen mit ketten- bzw. seitenständigen dissoziierbaren Gruppen sind Polyethylenimin, Polyvinylamin und Polyvinylpyridin. Polybasen bilden durch Aufnahme von Protonen Polykationen.

Erfindungsgemäß geeignete Polyelektrolyte sind sowohl Biopolymere, wie etwa Alginsäure, Gummi arabicum, Nucleinsäuren, Pektine, Proteine und andere, sowie chemisch modifizierte Biopolymere, wie etwa Carboxymethylcellulose und Ligninsulfonate sowie synthetische Polymere, wie etwa Polymethacrylsäure, Polyvinylsulfonsäure, Polyvinylphosphonsäure und Polyethylenimin. Durch geeignete Wahl der Polyelektrolyte ist es möglich, die Eigenschaften und Zusammensetzung der Polyelektrolythülle der erfindungsgemäßen Kapseln definiert einzustellen. Insbesondere bei schichtweise aufgebauten Polyelektrolythüllen kann die Zusammensetzung der Hüllen durch die Wahl der Substanzen beim Schichtaufbau in weiten Grenzen variiert werden. Grundsätzlich ergeben sich keine Einschränkungen hinsichtlich der zu verwendenden Polyelektrolyte bzw. Ionomere, solange die verwendeten Moleküle eine genügend hohe Ladung aufweisen oder/und die Fähigkeit besitzen, über andere Wechselwirkungsarten, wie beispielsweise Wasserstoffbrückenbindungen und/oder hydrophobe Wechselwirkungen, eine Bindung mit der darunter liegenden Schicht einzugehen.

Geeignete Polyelektrolyte sind somit sowohl niedermolekulare Polyelektrolyte bzw. Polyionen als auch makromolekulare Polyelektrolyte, beispielsweise Polyelektrolyte biologischer Herkunft.

In den erfindungsgemäßen Kapseln liegt innerhalb der Hülle bevorzugt eine Flüssigphase vor. Grundsätzlich können die erfindungsgemäßen Kapseln jede Flüssigkeit in ihrem Innern enthalten. Bevorzugt enthalten sie eine wässrige Flüssigkeit, insbesondere eine wässrige Salzlösung oder Wasser.

Besonders bevorzugt enthalten die erfindungsgemäßen Kapseln eingeschlossene Wirkstoffe. Da die erfindungsgemäßen Kapseln in ihrem Kern wässrige Lösungen enthalten können, ist es möglich, daß sie auch empfindliche Moleküle unter schonenden Bedingungen eingeschlossen enthalten. Die Wirkstoffe können sowohl anorganische als auch organische Stoffe sein.

Bevorzugt werden Katalysatoren, insbesondere Enzyme als Wirkstoffe ausgewählt. Der Einschluß von Katalysatoren, insbesondere Enzymen, in die erfindungsgemäßen Kapseln, wobei die Katalysatoren entweder an der Innenseite der Kapselwand adsorbiert sind oder als freie Moleküle im Kapselinnenraum vorliegen, ermöglicht die nahezu verlustfreie Verwendung von Katalysatoren. Die Katalysator enthaltenden Kapseln können einfacher als der freie Katalysator zurückgehalten oder rückgewonnen werden. Eine Kontamination der Katalysatoren wird durch die Schutz- und

Trennfunktion der Kapselhülle gegenüber dem Umgebungsmedium weitgehend ausgeschlossen. Insbesondere wird durch die Permeabilitätseigenschaften der Kapselwände verhindert, daß die im Kapselinneren eingeschlossenen Katalysatoren durch makromolekulare Stoffe in ihrer Wirksamkeit gehemmt oder inhibiert werden, während der Zutritt von Substrat und Austritt von Produkten möglich ist.

Die erfindungsgemäßen Kapseln können weiterhin bevorzugt eingeschlossene pharmazeutische Wirkstoffe enthalten. In diesem Fall wirkt die Kapsel insbesondere als Transportvehikel, um die pharmazeutischen Wirkstoffe an die gewünschte Stelle zu transportieren.

Die Polyelektrolythülle der erfindungsgemäßen Kapsel ist vorzugsweise für niedermolekulare Substanzen durchlässig, verhindert aber den Durchtritt von Makromolekülen. Damit stellt die Hüllwand eine Barriere gegenüber Mikroorganismen und von ihnen sekretierten externen Verdauungsenzymen dar. Deshalb können in die erfindungsgemäßen Kapseln biologisch abbaubare Substanzen eingeschlossen sein, ohne daß Konservierungsstoffe zur Haltbarmachung notwendig wären.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Kapseln bevorzugt Sensormoleküle umfassen. Sensormoleküle, die auf bestimmte Umgebungsbedingungen mit einer nachweisbaren Reaktion reagieren, z. B. durch Entwicklung einer Farbe, sind oftmals gegenüber äußeren Einflüssen sehr empfindliche Moleküle, die durch die erfindungsgemäßen Kapseln geschützt werden.

Von besonderer Bedeutung für die Verwendung von Kapseln ist die Permeabilität der Hüllwand. Wie bereits oben ausgeführt, ermöglicht die Vielzahl der zur Verfügung stehenden Polyelektrolyte die Herstellung einer Vielzahl von Hüllkompositionen mit unterschiedlichen Eigenschaften. Insbesondere kann die elektrische Ladung der Außenhülle dem Anwendungszweck angepaßt werden. Zudem kann die Innenhülle an den jeweiligen Wirkstoff angepaßt werden, wodurch z. B. eine Stabilisierung des Wirkstoffs erzielt werden kann. Daneben kann auch die Permeabilität der Hüllwand durch die Wahl der Polyelektrolyte in der Hülle und durch die Wanddicke sowie die Umgebungsbedingungen beeinflußt werden. Dadurch ist eine selektive Gestaltung der Permeabilitätseigenschaften sowie eine definierte Veränderung dieser Eigenschaften möglich.

Die Permeabilitätseigenschaften der Hülle können durch Poren in mindestens einer der Polyelektrolytschichten weiter modifiziert werden. Solche Poren können bei geeigneter Wahl durch die Polyelektrolyten selbst gebildet werden. Neben den Polyelektrolyten kann die Hülle aber auch andere Substanzen umfassen, um eine gewünschte Permeabilität zu erzielen. So kann insbesondere durch Einbringen von Nanopartikeln mit anionischen oder/und kationischen Gruppen oder von grenzflächenaktiven Substanzen, wie etwa Tensiden oder/und Lipiden, die Permeabilität für polare Komponenten gesenkt werden. Durch die Inkorporation von selektiven Transportsystemen, wie z. B. Carriern oder Kanälen, in die Polyelektrolythülle, insbesondere in Lipidschichten, ist eine genaue Anpassung der transversalen Transporteigenschaften der Hülle an den jeweiligen Anwendungszweck möglich. Die Poren oder Kanäle der Hüllwand können durch chemische Modifizierung oder/und Änderung der Umgebungsbedingungen gezielt geöffnet bzw. verschlossen werden. So führt beispielsweise eine hohe Salzkonzentration des Umgebungsmediums zu einer hohen Durchlässigkeit der Hüllwand.

Die erfindungsgemäßen Kapseln weisen bevorzugt eine Hüllwanddicke von 2 bis 100 nm, insbesondere 5 bis 80 nm, auf. Diese Hüllwanddicke im nm-Bereich ermöglicht die Herstellung von Kapseln mit einem Durchmesser < 10 µm.

Die Wanddicke der Hüllwand ist abhängig von der Zahl der Schichten, die Polyelektrolythülle umfaßt. Die erfindungsgemäßen Kapseln umfassen bevorzugt 2 bis 20, besonders bevorzugt 3 bis 10 Schichten.

Die erfindungsgemäßen Kapseln zeichnen sich weiterhin durch ihre Monodispersität aus. So ist es möglich, eine Zusammensetzung mit einer Kapselverteilung zu erhalten, bei der der Anteil an Kapseln, deren Abweichung vom mittleren Durchmesser $> 50\%$ ist, weniger als 20% , bevorzugt weniger als 10% beträgt.

Die erfindungsgemäßen Mikro- und Nanokapseln sind äußerst stabil gegenüber chemischen, biologischen, mechanischen und thermischen Belastungen. Gleichzeitig können in ihrem Inneren auch empfindliche Moleküle eingeschlossen sein, da der Kern aus einer wäßrigen Lösung bestehen kann. Die erfindungsgemäßen Kapseln können auch eingefroren oder gefriergetrocknet werden, ohne ihre positiven Eigenschaften zu verlieren. So werden beim Auftauen bzw. Resuspendieren in Wasser wieder Kapseln erhalten, die die erfindungsgemäßen Vorteile aufweisen. Es ist auch möglich, Kapseln mit eingeschlossenen Wirkstoffen einzufrieren oder/und gefrierzutrocknen und später durch Auftauen bzw. Resuspendieren in Wasser wieder zu aktivieren.

Es ist auch möglich, eine Kapseln umfassende Zusammensetzung durch Trocknung z. B. als Pulver zu gewinnen und sie wieder in geeigneten Lösungsmitteln, insbesondere in wäßrigen Lösungen zu resuspendieren, ohne daß die vorteilhaften Eigenschaften verloren gehen. Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist deshalb eine getrocknete Kapseln umfassende Zusammensetzung. Die Trocknung kann nach bekannten Verfahren durchgeführt werden, insbesondere bei erhöhter Temperatur und reduziertem Druck.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von Kapseln mit einem Durchmesser $< 10 \mu\text{m}$ umfassend die Schritte:

- a) Bereitstellen einer wäßrigen Dispersion von Templatpartikeln geeigneter Größe und
- b) Herstellen einer Hülle um die Templatpartikel durch Aufbringen von Polyelektrolyten auf die Templatpartikel.

Erfindungsgemäß wird zunächst eine wäßrige Dispersion von Templatpartikeln geeigneter Größe bereitgestellt. Durch die Größe der Templatpartikel wird die Größe der Kapseln festgelegt. Die Templatpartikel weisen deshalb einen Durchmesser $< 10 \mu\text{m}$, bevorzugt $< 5 \mu\text{m}$ auf. Als Templatpartikel können insbesondere Partikel dienen, die wie unten beschrieben unter vorbestimmten Bedingungen aufgelöst bzw. zerkleinert werden können. Erfindungsgemäß werden anschließend Polyelektrolytschichten auf die Templatpartikel aufgebracht, wodurch ein umhülltes Templatpartikel gebildet wird. Die Form der Umhüllung hängt dabei unmittelbar von der Form der Templatpartikel ab.

Das erfindungsgemäße Verfahren ermöglicht es überraschenderweise, stabile Nano- und Mikrokapseln aus Polyelektrolyten herzustellen. In die Kapseln können empfindliche Substanzen eingeschlossen werden. Die Kapseln können auch als Reaktionsräume oder als Kristallisationstemplate genutzt werden. Das erfindungsgemäße Verfahren ermöglicht eine Kapselherstellung unter schonenden Bedingungen in wäßrigen Medien auch bei Raumtemperatur. Die Kapselwand, eine Polyelektrolythülle, ermöglicht den Stoffaustausch mit der Umgebung, hält aber gleichzeitig eingekapselte makromolekulare Wirkstoffe zurück. Die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Kapselwand sind in weiten Bereichen durch die Zusammensetzung der Hülle und die Umgebungsparameter einstellbar. Die Per-

meabilitätseigenschaften der Hüllwand ermöglichen den Schutz von eingeschlossenen Wirkstoffen vor biologischen Abbauprozessen auch ohne Zusatz von Konservierungstoffen.

Bevorzugt werden teilvernetzte Melaminformaldehydpartikel als Templatpartikel eingesetzt. Auf die Templatpartikel, insbesondere teilvernetzte Melaminformaldehydpartikel, werden bevorzugt schichtweise nacheinander entgegengesetzt geladene Polyelektrolytmoleküle und/oder andere Schichtbestandteile, wie etwa Nanopartikel oder oberflächenaktive Stoffe aus wäßrigen Medien adsorbiert. Die Größe der Templatpartikel ist vorzugsweise $< 10 \mu\text{m}$, besonders bevorzugt 5 nm bis $5 \mu\text{m}$, so daß bei Adsorption von Polyelektrolytmolekülen auf die Partikel eine Nano- oder Mikrokapsel der jeweils gewünschten Größe erhalten wird. Sobald die gewünschte Kapselwandzusammensetzung durch den Schichtaufbau erreicht ist, können die beschichteten Templatpartikel Bedingungen ausgesetzt werden, die zum Auflösen bzw. zur Desintegration der Templatpartikel führen. Diese Bedingungen werden so gewählt, daß die Templatpartikel aufgelöst werden, die Hülle jedoch intakt bleibt. Die bei der Auflösung entstehenden niedermolekularen Kernbestandteile können durch die Poren der Hülle nach außen gelangen. Auf diese Weise erhält man Kapseln mit Polyelektrolythüllen, die einen "leeren" flüssigen Kern enthalten.

Bevorzugt werden vorgeformte oder präformierte Aggregate von Subpartikeln als Ausgangskerne (Templatpartikel) zur Beschichtung mit Polyelektrolyten eingesetzt. Eine solche Präformierung kann beispielsweise durch Anlegen externer elektrischer Gleichstrom- oder/und Wechselfelder auf Suspensionen mit Subpartikeln erzielt werden. Durch vorgeformte Aggregate kann die Form der Kapseln bestimmt werden. Weiterhin können solche Aggregate mit einer hohen Einheitlichkeit hinsichtlich der Größenverteilung erhalten werden (Monodispersität). Von besonderem Interesse sind präformierte Aggregate in sphärischer Form.

Die Zusammensetzung der Kapselhüllen ist durch die Wahl der Substanzen beim Schichtaufbau variierbar. Die Dicke der Kapselwände wird vor allem durch die Anzahl der Schichten bestimmt und beträgt bevorzugt 2 bis 100 nm , wobei 2 bis 20, insbesondere 3 bis 10 Polyelektrolytschichten aufgebracht werden. Bevorzugt werden die Polyelektrolyte nacheinander schichtweise aufgebracht. Dazu geht man von einer Dispersion von Templatpartikeln in einer wäßrigen Lösung aus. Bei Verwendung von teilvernetzten Melaminformaldehydpartikeln als Templatpartikel wählt man beispielsweise eine wäßrige Lösung mit einem pH-Wert > 2 . Zu dieser Dispersion gibt man dann Polyelektrolytmoleküle, aus denen die erste Schicht aufgebaut werden soll. Im Fall von teilvernetzten Melaminformaldehydpartikeln wählt man negativ geladene Polyelektrolytmoleküle. Die Menge der zugegebenen Polyelektrolytmoleküle wird entweder so gewählt, daß das gesamte Material für den Aufbau einer gesättigten ersten Schicht benötigt wird oder man gibt den ersten Polyelektrolyten im Überschuß zu. Im letzteren Fall ist es zweckmäßig, nach dem Aufbringen der ersten Schicht die noch in Lösung befindlichen Polyelektrolytmoleküle, die nicht zum Schichtaufbau beigetragen haben, zu entfernen, bevor man mit der Zugabe des Polyelektrolyten für den Aufbau der zweiten Schicht beginnt. Ein solches Abtrennen kann nach allen bekannten Verfahren erfolgen, insbesondere durch Zentrifugation, Filtration oder/und Dialyse. Wenn die Menge der ersten Polyelektrolyte so eingestellt wird, daß die gesamte eingebrachte Komponente für den Aufbau der ersten Schicht verbraucht wird, kann auf den Abtrennungsschritt verzichtet werden. Eine solche Vorgehensweise hat jedoch den Nachteil, daß die eingebrachte Konzentration der

Polyelektrolytmoleküle durch Vorversuche festgestellt oder berechnet werden muß.

Analog werden anschließend weitere Schichten, bis zur gewünschten Schichtanzahl aufgebracht. Bevorzugt wird dabei abwechselnd eine positiv und eine negativ geladene Schicht aufgebracht, wobei für jede zweite Schicht die gleiche oder eine verschiedene Komponente gewählt werden kann.

Bevorzugt erfolgt der Aufbau durch schichtweise Polyelektrolyt-Selbstassemblierung. Dabei wird die Kapselhülle durch Assemblierung von entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten oder anderen geladenen Komponenten gebildet.

Nachdem die gewünschte Anzahl Schichten aufgebracht worden ist, werden die nun umhüllten Templatpartikel bevorzugt desintegriert, insbesondere zerkleinert oder aufgelöst. Dabei wird der Kern durch Auflösen oder Desintegration der Templatpartikel entfernt und es verbleiben Kapseln mit einer Polyelektrolythülle. Die Auflösung der Templatpartikel wird unter Bedingungen durchgeführt, bei denen die Hüllen intakt bleiben. Eine Auflösung kann je nach Wahl des Templatpartikelmateri- als z. B. thermisch oder chemisch erfolgen, insbesondere durch Veränderung des pH-Wertes. So wird bei Verwendung von teilvernetzten Melaminformaldehydpartikeln beispielsweise der pH-Wert der die umhüllten Partikel enthaltenden Dispersion auf einen sauren Wert, z. B. ≤ 1.5 , eingestellt, was zur Auflösung der Templatpartikel innerhalb der Hüllschicht führt, während die Hüllschicht selbst intakt bleibt. Die Templatpartikel, insbesondere teilvernetzte Melaminformaldehydpartikel können auch durch chemische Reaktionen, insbesondere durch Sulfonierung in wäßrigen Medien aufgelöst werden. Als Sulfonierungsagentien werden bevorzugt Alkalisulfite, Alkalihydrogensulfite und andere wasserlösliche Salze der schwefeligen Säure verwendet.

Die bei der Desintegration der Templatpartikel gebildeten Fragmente können durch Poren, insbesondere Nanoporen, der Hüllwand aus dem Inneren der Kapseln nach außen austreten. Anschließend können sie von den Kapseln abgetrennt werden. Diese Abtrennung kann durch dem Fachmann bekannte Verfahren durchgeführt werden. Bevorzugt werden die Templatpartikelfragmente, das können im Fall von teilvernetzten Melaminformaldehydpartikeln z. B. bei der Auflösung entstandene Oligomere sein, durch Dialyse, Filtration oder Zentrifugation abgetrennt. Eine Abtrennung der Templatpartikelfragmente ist zuvor bevorzugt aber nicht notwendigerweise erforderlich. Die Kapseln können auch ohne Abtrennungsschritt verwendet werden.

Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren können geschlossene Kapseln mit Wandstärken im nm-Bereich, bevorzugt 2 bis 100 nm, hergestellt werden. Solche Kapseln können im Inneren eine wäßrige Lösung enthalten, die in ihrer Zusammensetzung gerade dem Außenmedium entspricht. Solche Hüllen können unmittelbar als Mikro- bzw. Nanoreaktionsräume, als Kristallisationstemplate zur Herstellung von Kristallisationsprodukten oder als Ausgangsbasis zur Herstellung von Mikro- bzw. Nanokompositen verwendet werden.

Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren ist es auch möglich, Kapseln mit eingeschlossenen Wirkstoffen oder Kapseln zum Einschluß von Wirkstoffen herzustellen. Die Beladung des Innenraums mit kleinen Molekülen kann dadurch erfolgen, daß die Permeabilität der Hülle als Funktion der externen physikalischen und chemischen Parameter variiert wird. Zur Beladung wird ein Zustand hoher Permeabilität eingestellt. Das eingeschlossene Material wird anschließend durch Veränderung der äußeren Parameter oder/und Verschuß der Poren, beispielsweise durch Kondensation der Hülle oder chemische Modifikation der Poren oder Kanäle zurückgehalten.

Es können in die Kapseln jedoch auch Wirkstoffe eingeschlossen werden, die aufgrund ihrer Größe nicht durch die Hüllen permeieren können. Dazu wird im erfindungsgemäßen Verfahren der einzuschließende Wirkstoff bevorzugt zunächst an das Templatpartikel immobilisiert. Eine solche Kopplung des Wirkstoffs an das Templat kann direkt erfolgen, aber auch durch einen Bindevermittler bewirkt werden. Als Bindevermittler werden bevorzugt Moleküle verwendet, die bei bestimmten Bedingungen degradierbar oder abbaubar sind. Besonders bevorzugt wird als Bindevermittler Polymilchsäure verwendet. Hierzu wird der Wirkstoff mittels des Bindevermittlers, insbesondere Polymilchsäure, an das Templatpartikel, beispielsweise eiteilvernetztes Melaminformaldehydpartikel immobilisiert. Auf diese Weise wird der einzuschließende Wirkstoff selbst Bestandteil des Schichtaufbaus bei der Beschichtung des Kerns. Nach der Auflösung der Templatpartikel und ggf. Degradation der Bindemoleküle wird der Wirkstoff ins Innere der Hülle freigesetzt. Mit diesem Verfahren können beliebige Wirkstoffe in die Hülle eingeschlossen werden, insbesondere Nanopartikel und nichtbiologische makromolekulare Komponenten und bevorzugt biologische Makromoleküle, wie etwa Proteine, insbesondere Enzyme.

Die Inkorporation von Wirkstoffen in den von den Hüllen umschlossenen Innenraum kann aber auch durch vorherige Einbringung der Wirkstoffe in die Templatpartikel bei Verwendung von reversiblen Mikrogelen als Templatpartikel durchgeführt werden. So ermöglicht beispielsweise die Verwendung von teilvernetzten Methylolmelaminkernen vor der Beschichtung, in gequollene Kerne Substanzen zu inkorporieren, die nach einer reversiblen Schrumpfung im Kern eingeschlossen sind.

Die nach den obigen Vorgehensweisen in die Hülle eingeschlossenen Wirkstoffe können frei im Inneren der Hülle vorliegen oder mit der inneren Hüllwand verknüpft sein. Bevorzugt wird das Verfahren so durchgeführt, daß die eingekapselten Wirkstoffe im Inneren der Hülle frei vorliegen.

Die erfindungsgemäßen Kapseln können vorteilhaft an eine Oberfläche immobilisiert werden. Die Einstellung der Ladung der äußeren Schicht und die freie Funktionalisierbarkeit der Außenhülle erlaubt eine vom Zustand der eingeschlossenen Moleküle unabhängige Immobilisierung der Kapseln. Dies eröffnet zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten, vor allem im Bereich der Sensorik und Oberflächenanalytik. Bevorzugt werden bereits die mit Polyelektrolyt beschichteten Templatpartikel an eine Oberfläche adheriert und die Templatpartikel dann aus den bereits immobilisierten beschichteten Kernen herausgelöst, um immobilisierte Kapseln zu bilden.

Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren ist es möglich, Nanokapseln (mit einem Durchmesser < 1000 nm) bzw. Mikrokapseln (mit einem Durchmesser von $1 \mu\text{m}$ bis $< 10 \mu\text{m}$, insbesondere $\leq 5 \mu\text{m}$) mit einer Polyelektrolythülle herzustellen. Dabei können sowohl "leere", d. h. nur mit wäßriger Lösung gefüllte Kapseln, die insbesondere als Reaktionsräume sowie als Ausgangsmaterial für Komposite geeignet sind, hergestellt werden als auch Kapseln mit eingeschlossenem Material, insbesondere eingeschlossenem wasserlöslichem Material, wie etwa Makromolekülen (z. B. Proteine und Präzipitate). Die erfindungsgemäß erhaltenen Kapseln weisen Hüllen mit geringer Wandstärke und großer Stabilität auf, während Permeabilitätseigenschaften in weiten Bereichen variierbar sind. So können insbesondere für Ionen und kleine Moleküle durchlässige Hüllen erhalten werden. Die Verwendung von monodispersen Templatpartikeln ermöglicht die Herstellung monodisperser, insbesondere sphärischer Polyelektrolythüllen.

Die verwendeten Templatpartikel müssen nicht notwen-

digerweise geladen sein, um eine Selbstassemblierung von Polyelektrolytschichten zu ermöglichen. Vielmehr kann auf nichtgeladene Kerne ein geladener Precursorfilm aufgebracht werden, der an die Templatpartikel durch andere Wechselwirkungen, beispielsweise hydrophobe Wechselwirkungen, gebunden ist.

Die erfindungsgemäßen Kapseln können in zahlreichen Anwendungsgebieten vorteilhaft eingesetzt werden. Deshalb betrifft die Erfindung auch die Verwendung der erfindungsgemäßen Kapseln zum Einschluß von Substanzen. Das oben beschriebene Verfahren ermöglicht es, in technisch einfacher Weise auch empfindliche organische Substanzen einzuschließen, wobei das Verfahren vollständig in wäßrigen Lösungen und bei Raumtemperatur durchführbar ist. Der Einschluß von Katalysatoren und insbesondere von Enzymen in den erfindungsgemäßen Kapseln ermöglicht die verlustfreie Verwendung von Katalysatoren in Reaktionssystemen. So können die beispielsweise an der Innenseite der Hüllen adsorbierten oder als freie Moleküle im Inneren der Kapseln vorliegenden Katalysatormoleküle, insbesondere Enzyme, praktisch ohne Verluste in Reaktionssystemen, wie etwa Volumenreaktionssystemen, verwendet werden, da eine nahezu vollständige Rückhaltung und/oder Wiedergewinnung der Kapseln mit den darin enthaltenen Katalysatoren möglich ist. Eine Immobilisierung der Kapseln bei gleichzeitiger freier Beweglichkeit der in den Kapseln eingeschlossenen Wirkstoffe ermöglicht die Immobilisation von "freien" Molekülen. Da die Kapselwände für niedermolekulare Substanzen durchlässig sind, ist ein Zutritt der Substrate der Enzyme möglich, während gleichzeitig die Nichtdurchlässigkeit der Hülle für makromolekulare Stoffe das Eindringen von Mikroorganismen bzw. Verdauungsenzymen verhindert. Auf diese Weise kann die Effektivität von Katalysatoren weiter erhöht werden. Daneben wird durch die Verwendung der Kapseln ein Ausspülen bzw. Austragen des Katalysators verhindert.

Bei der Verwendung der Kapseln als Mikroreaktionsräume können niedermolekulare Substanzen, wie z. B. Edukte und Produkte, durch die Hüllwände permeieren, während beispielsweise die Katalysatoren eingeschlossen sind. Bei der Verwendung von mit Katalysatoren beladenen Mikro- bzw. Nanokapseln, wobei die Kapseln beispielsweise in einer Säule gepackt sind, steht für die Reaktion beträchtlich mehr Katalysator zur Verfügung, als bei herkömmlichen oberflächen gebundenen Katalysatoren, da dort die Größe der Oberfläche limitierend ist. Besonders vorteilhaft ist, daß der Katalysator im Kapselinneren von der Produktion nicht durch aufwendige Verfahren wieder abgetrennt werden muß. Weiterhin ist die Lebensdauer der Katalysatoren verbessert, da makromolekulare Stoffe, insbesondere Bakterien und Pilze, nicht durch die Hüllwände gelangen können. Dadurch werden die an viele Verfahren gestellten hohen Anforderungen an die Sterilität verringert, was viele, technisch einfache Anwendungen von biologischen Katalysatoren eröffnet.

Grundsätzlich können die erfindungsgemäßen Kapseln zum Einschluß beliebiger Wirkstoffe, insbesondere auch von Nanopartikeln, pharmazeutischen Wirkstoffen, Werkstoffen, Kristallen etc. verwendet werden. Deshalb finden entsprechend beladene Kapseln Anwendung u. a. in der Sensorik, Pharmazie, Medizin und Werkstofftechnik.

Der Einschluß von Sensormolekülen ermöglicht die vorteilhafte Verwendung in der Sensorik. Bei Sensormolekülen handelt es sich bevorzugt um Enzyme und deren Derivate, die in Anwesenheit bestimmter Stoffe oder Bedingungen beispielsweise optisch aktive Produkte oder anders nachweisbare Produkte, beispielsweise farbige oder fluoreszierende Produkte bilden. Solche Produkte können dann mit

empfindlichen optischen Methoden bestimmt werden. Es können aber auch elektrisch aktive Sensormoleküle, insbesondere oxidierbare oder reduzierbare Stoffe, eingeschlossen werden, wobei die Kapseln vorteilhaft auf Elektroden immobilisiert werden. Hier ist neben der grundsätzlich schützenden Funktion der Kapseln insbesondere von Vorteil, daß das Sensormolekül, beispielsweise ein Enzym, nicht direkt mit der Elektrode in Berührung kommt.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Kapseln auch zum Einschluß und ggf. Transport von pharmazeutischen Wirkstoffen verwendet werden. Die Möglichkeit, das Einschlußverfahren im wäßrigen Milieu bei Raumtemperatur durchzuführen, ermöglicht auch den Einschluß empfindlicher biologisch wirksamer Moleküle. Diese können innerhalb der schützenden Hülle an die gewünschte Stelle im Organismus transportiert werden. Durch entsprechende Wahl der Oberflächeneigenschaften der Außenschicht der Hülle kann ein spezifischer Transport erzielt werden.

Die erfindungsgemäßen Kapseln eignen sich insbesondere als Mikro- bzw. Nanoreaktionsräume. Hierzu können sowohl leere Kapseln als auch Kapseln, die einen Wirkstoff oder Katalysator enthalten, verwendet werden. Solche Kapseln eignen sich insbesondere für Stoffumwandlungsprozesse, aber auch für Präzipitationen. Hierbei kann durch geeignete Wahl bzw. Veränderung der Permeabilitätseigenschaften der Hüllwand die Reaktion gesteuert werden. So wurde beispielsweise festgestellt, daß die Durchlässigkeit der Kapselwände durch Variation der Zusammensetzung eines Elektrolytmediums gesteuert werden kann, wobei bei hohen Salzkonzentrationen eine höhere Permeabilität festgestellt wurde als in Wasser.

Die Kapseln können auch zur Herstellung von Kristallen aus organischen oder anorganischen Materialien oder zum Einschluß von organischen oder anorganischen Kristallen verwendet werden. Bevorzugt dienen die Kapseln als Kristallisationsraum bzw. Template zur Herstellung von insbesondere monodispersen Kristallen. Mit den erfindungsgemäßen Kapseln ist ein hoher Grad an Monodispersität zu erhalten, da die maximale Größe der Kristalle durch die Größe der Kapseln begrenzt ist. Als Kristallisationskeime werden bevorzugt chemische Gruppen an der inneren Hüllwand verwendet. Dazu werden beim schichtweisen Aufbau der Hülle der Kapseln in der innersten Schicht Moleküle verwendet, die Seitenketten aufweisen, die das Kristallwachstum begünstigen. So können beispielsweise Polyphosphate an der Innenseite der Hülle aufgebracht werden, um im Inneren CaCO_3 zu bilden. Als äußerste Schicht der Polyelektrolythülle der Kapseln werden günstigerweise Polyelektrolyte verwendet, die ein Kristallwachstum nicht zulassen, beispielsweise Amine.

Die Kapseln können auch zum Aufbau von Mikro- bzw. Nanokompositen verwendet werden. Mikro- und Nanokomposite sind Werkstoffe, die aus mindestens zwei verschiedenen Materialien bestehen und eine mikro- bzw. nanoskopische Ordnung aufweisen. Solche Komposite imitieren oftmals in der Natur vorliegende Produkte, wie z. B. Muschelschalen, die aus Nanokompositen von gewöhnlichen Kalk- und Eiweißmolekülen bestehen. Solche Komposite haben bei geringem Gewicht eine überraschend hohe Festigkeit. Durch die Assemblierung können makroskopische Strukturen geordnet aufgebaut werden.

Die Erfindung wird durch die beigefügten Figuren und Beispiele weiter erläutert.

Fig. 1 stellt eine schematische Veranschaulichung einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens dar.

Fig. 2 zeigt die Schichtdicke als Funktion der Zahl der Schichten bei der Absorption von Poly(allylaminhydrochlorid).

rid) (PAH) und Poly(styrolsulfonat, Natriumsalz) (PSS) auf negativ geladene Polystyrolatexpartikel.

Fig. 3 zeigt ein SEM-Abbild (Rasterelektronenmikroskopie) einer Polyelektrolytschale umfassend neun Schichten [(PSS/PAH)₄/PSS] nach Auflösung des Kerns. Die äußere Schicht ist PSS.

Fig. 4 zeigt ein TEM-Abbild (Transmissionselektronenmikroskopie) einer Polyelektrolythülle umfassend neun Schichten [(PSS/PAH)₄/PSS].

Fig. 5 zeigt Tapping Mode (TM) Atomkraftmikroskopie (ASM)-Abbildungen von PSS/PAH-Polyelektrolythüllen. Die Zahl der Polyelektrolythüllen beträgt in Fig. 5(A) 3 [(PSS/PAH)/PSS] und in Fig. 5(B) 9 [(PSS/PAH)₄/PSS].

Beispiele

Beispiel 1

Herstellung von teilvernetzten Melaminformaldehyd-Templatpartikeln

Monodisperse Melaminformaldehydpolymerpartikel können durch eine Polykondensationsreaktion aus Melaminformaldehydpräkondensaten im Größenbereich bis zu 15 µm hergestellt werden (vgl. DD 224 602). Die Größe der Partikel kann durch die Monomerkondensation, den pH-Wert, die Reaktionstemperatur und den Tensidzusatz beeinflusst werden. Bei den im Stand der Technik beschriebenen Verfahren werden hochvernetzte Partikel erhalten, die in den meisten organischen Lösungsmitteln, wie etwa Xylol, Toluol und Alkohol sowie in Säuren und Basen unlöslich sind. Zur Herstellung von auflösbaren, teilvernetzten Melaminformaldehyd-Templat-Partikeln wird das im Stand der Technik beschriebene Verfahren modifiziert, indem der Polykondensationsprozeß auf einer bestimmten Initialstufe der Reaktion unterbrochen wird. Dadurch werden in wäßrigen Medien lösliche Kerne erhalten. Der Abbruch der Reaktion kann durch rasche Temperaturabsenkung, durch Veränderung des pH-Werts in den alkalischen Bereich und durch Wahl geeigneter Präkondensate, insbesondere Tetramethylolmelamin, erreicht werden. Die so erhaltenen Kerne können durch Säurezugabe und/oder durch bestimmte chemische Reaktionen, insbesondere Sulfonierung in wäßrigen Medien, aufgelöst werden. Als Sulfonierungsagentien können insbesondere Alkalisulfite, Alkalihydrogensulfite und andere wasserlösliche Salze der schwefligen Säure eingesetzt werden. Die Auflösbarkeit der Kerne kann durch den Zeitpunkt der Unterbrechung des Polykondensationsprozesses beeinflusst werden. Die Unterbrechung wird 1 min bis 3 Std. nach Start der Reaktion in Abhängigkeit der Reaktionsbedingungen und in Abhängigkeit der gewünschten Auflösbarkeit der Kerne durchgeführt. Die Auflösungsgeschwindigkeit kann weiterhin durch die Wahl von pH-Wert, Temperatur und Sulfonierungsreagens gesteuert werden. Somit ist es möglich, Kerne mit einer Auflösungsgeschwindigkeit von 0,1 sek bis 10 Std., wiederum in Abhängigkeit der Lösungsbedingungen, zu erhalten. Diese auflösbaren Melaminformaldehydpartikel werden hierin als teilvernetzte Melaminformaldehydpartikel bezeichnet.

Beispiel 2

Herstellung von leeren Polyelektrolythüllen

Auf wie in Beispiel 1 beschrieben hergestellte monodisperse, kolloidale, teilvernetzte Melaminformaldehydpartikel (MF) mit einem Durchmesser von 2,0 bzw. 3,3 µm werden schrittweise Polyelektrolyte aus verdünnten wäßrigen

Lösungen aufgebracht (vgl. Fig. 1). Die verwendeten teilvernetzten Melaminformaldehydpartikel sind in wäßrigen Medien bei pH-Werten unterhalb 1,6 innerhalb weniger Sekunden löslich. Bei pH-Werten oberhalb 1,8 wurde keine nachweisbare Auflösung der Kerne beobachtet. Die Polyelektrolytschichten werden durch alternierende Adsorption von entgegengesetzt geladenen Polyionen, beginnend mit der Adsorption eines negativ geladenen Polyanions (z. B. Polystyrolsulfonat, Natriumsalz; PSS) auf die positiv geladenen MF-Partikel aufgebracht. Typische Adsorptionsbedingungen waren 20 Mono-mM-Polyelektrolyt in 0,5 M NaCl bei Partikelkonzentrationen von 0,5 Gew.-%. Die Adsorptionsdauer betrug 20 min. Die MF-Partikel hatten eine Dichte von 1,5 g/cm³.

Nach der Adsorptionszeit wurde überschüssiger Elektrolyt durch wiederholte Zentrifugation/Waschzyklen entfernt. Dazu wurden die beschichteten Kerne bei einer Zentrifugationsgeschwindigkeit von 2000 U/min (unter Verwendung eines Eppendorf-Rotors) abgesetzt. Dann wurden drei Waschschritte mit Millipore-Wasser vor der Zugabe des nächsten Polyelektrolyten durchgeführt, um die vollständige Entfernung von nichtadsorbiertem Polyelektrolyten sicherzustellen. Durch Wiederholung dieser Vorgehensweise kann die gewünschte Zahl von Polyelektrolytschichten aufgebracht werden.

Anschließend wird der pH-Wert auf < 1,6 erniedrigt, wodurch die MF-Kerne aufgelöst werden. Die Fragmente dringen durch die Poren der Hülle nach außen und können entfernt werden, so daß eine leere Polyelektrolythülle erhalten wird.

Beispiel 3

Abhängigkeit der Schichtdicke von der Anzahl der Schichten (vgl. Fig. 2)

Auf negativ geladene Polystyrolatexpartikel wurden abwechselnd Schichten aus Poly(allylaminhydrochlorid) (PAH) und Poly(styrolsulfonat, Natriumsalz) (PSS) adsorbiert. Die Schichtdicke wurde durch Einzelteilchen-Lichtstreuung gemessen. Der Intensitätsanstieg des gestreuten Lichts ist ein Maß für die adsorbierte Menge und wurde in die Schichtdicke unter Verwendung des Refraktionsindex der Polyelektrolytschichten konvertiert. Das Insert in Fig. 2 gibt das aus elektrophoretischen Mobilitätsmessungen (Malvern Zetasizer 4) abgeleitete Zetapotential für die Adsorption von PAH und PSS auf Polystyrolpartikel (ausgefüllte Kreise) und für die Adsorption von PSS und PAH auf positiv geladene MF-Partikel (offene Kreise) an.

Das Zetapotential ist ein Maß für die effektive Ladungsdichte auf der Partikeloberfläche. Wie aus dem Insert in Fig. 2 ersichtlich ist, tritt eine Umkehrung des Oberflächenpotentials mit der Adsorption jeder Polyelektrolytschicht auf die Polystyrol- bzw. MF-Partikel auf. Eine Umkehrung des Oberflächenpotentials ist notwendig, um die anschließende Adsorption des entgegengesetzt geladenen Polyions zu ermöglichen.

Flugzeitmassenspektrometrische Untersuchungen haben gezeigt, daß bei der Auflösung der teilvernetzten MF-Templatpartikel bei einem pH-Wert < 1,6 MF-Oligomere gebildet werden, die hauptsächlich aus 5–10 Monomeren von Tetramethylolmelamin bestehen. Diese MF-Oligomere haben eine charakteristische Querschnittsausdehnung von etwa 1 nm, wie durch molekulare Dynamiksimulationen bestimmt (unter Verwendung des Programms DISCOVERY). Diese Oligomere werden aus dem Kern ausgestoßen und permeieren durch Polyelektrolytschichten, die die Hülle bilden, und können schließlich von den leeren Schalen durch

Zentrifugation abgetrennt werden. Dies bestätigt, daß die Hüllen für Moleküle mit einer Größe im Bereich von wenigen nm, insbesondere ≤ 10 nm, bevorzugt ≤ 5 nm, leicht permeabel sind.

Beispiel 4

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der Polyelektrolythüllen (vgl. Fig. 3)

Die hergestellten Polyelektrolythüllen wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie untersucht. Zunächst wurde ein MF-Kern mit einem Durchmesser von $3,3 \mu\text{m}$ mit 9 Polyelektrolytschichten [(PSS/PAH)₄/PSS] beschichtet. Die äußerste Schicht ist PSS. Nach Auflösung des MF-Kerns wurden die erhaltenen Kapseln mit SEM untersucht. Wie aus Fig. 3 ersichtlich, liegen die Durchmesser im Bereich von $4,0 \pm 0,5 \mu\text{m}$. Die Schalen werden durch eine starke elektrostatische Anziehung an die positiv geladene, Poly(ethylenimin)-beschichtete Glasoberfläche immobilisiert. Weiterhin tritt während der Untersuchung ein gewisses Ausmaß an Austrocknen der Kapseln ein. Dies führt dazu, daß die Hülle faltig wird. Wie jedoch aus Fig. 3 ersichtlich ist, sind keine Löcher oder Rißspuren in den Hüllen zu finden.

Die SEM-Messungen wurden unter Verwendung eines Zeiss-DSM40-Instruments durchgeführt, welches bei einer Beschleunigungsspannung von 15 KEV betrieben wurde. Die Proben wurden durch Aufbringen eines Tropfens einer die Hüllen enthaltenden Lösung auf Poly(ethylenimin)-beschichtetes Glas hergestellt. Nachdem sich die Hüllen auf den Glaträgern abgesetzt hatten, wurden sie gründlich mit Millipore-Wasser gespült und vorsichtig unter einem Stickstoffstrom getrocknet.

Beispiel 5

Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Auf MF-Templatpartikel mit einem Durchmesser von $2 \mu\text{m}$ wurden neun Schichten Polyelektrolyt [(PSS/PAH)₄/PSS] aufgebracht. Anschließend wurde das Templatpartikel durch Erniedrigung des pH-Wertes auf $< 1,6$ aufgelöst und entfernt. Die TEM-Proben wurden mit Glutaraldehyd, OsO₄ und K₂Cr₂O₇ fixiert und in Ethanol/Aceton dehydriert. Die Proben wurden in ein Epon 812/Araldit M-Harz eingebettet und in einem Ofen für zwei Tage polymerisiert. Dünne Schnitte (80 bis 100 nm) wurden unter Verwendung eines Reichert-Ultratom geschnitten und mit Uranylacetat und Bleicitrat eingefärbt. Die Messungen wurden auf einem JEOL 100 B Elektronenmikroskop durchgeführt.

Wie aus Fig. 4 ersichtlich, kann die angefärbte Polyelektrolytschicht, die das weniger angefärbte Zellinnere umgibt, deutlich identifiziert werden. Die homogene Form der Hüllen zeigt, daß die hergestellten Kapseln sowohl den Durchmesser als auch die sphärische Form der Templatpartikel beibehalten, unter der Voraussetzung, daß die innere wäßrige Lösung nicht entfernt wird. Aus dem TEM-Abbild kann weiterhin gesehen werden, daß die Dicke der Polyelektrolythülle in der Größenordnung von 20 nm für die neunlagige Polyelektrolythülle ist. Dieser Wert stimmt mit den in Fig. 2 gezeigten Daten für Polyelektrolyt-beschichtete Polystyrolpartikel überein. Daraus kann man schließen, daß die Art der Templatpartikel die Dicke der Polyelektrolytschichten nicht wesentlich beeinflusst. Auch aus dem TEM-Abbild kann gesehen werden, daß die Polyelektrolythüllen weder Risse noch Löcher aufweisen.

Beispiel 6

ASM-Untersuchungen (vgl. Fig. 5)

PSS/PAH-Polyelektrolythüllen wurden unter Verwendung von MF-Templatpartikeln mit einem Durchmesser von $3,3 \mu\text{m}$ wie oben beschrieben hergestellt. Die Zahl der Polyelektrolytschichten betrug 3 [(PSS/PAH)/PSS] (Fig. 5(A)) bzw. 9 [(PSS/PAH)₄/PSS] (Fig. 5(B)). Diese Kapseln wurden mit Atomic Force Microscopy (AFM) im Tapping Mode (TM) untersucht. Die in Fig. 5 gezeigten Abbildungen zeigen, daß die dreidimensionalen Polyelektrolythüllen durchgehende Folien sind, die Falten aufweisen, die von der Verdampfung des wäßrigen Inneren resultieren. Wie zu sehen ist, steigt die Höhe der Kapseln mit ansteigender Schichtzahl an. Die maximale Höhe der getrockneten Hüllen in Abbildung A liegt in der Größenordnung von 50 nm und in Fig. 5(B) in der Größenordnung von 100 nm.

Beispiel 7

100 μl einer 3%-igen Dispersion von teilvernetzten Melamin-Formaldehyd-Partikeln mit einer Partikelgröße von $3 \mu\text{m}$ werden mit 400 μl einer 20 mono-mM Na-Poly(styrolsulfonat)lösung (PSS) in 0,5 M NaCl versetzt. Nach einer Einwirkzeit von 5 min unter leichtem Schütteln wird 1 ml reines Wasser zugesetzt. Nach Zentrifugation bei 2000 U/min wird der Überstand decantiert, das Sediment mit reinem Wasser aufgefüllt und die Zentrifugation wiederholt. Abermaliges Decantieren und ein weiterer Zentrifugationszyklus ergeben gereinigte, mit einer PSS-Schicht bedeckte MF-Partikel. In analoger Weise wird anschließend eine Poly(allylaminhydrochlorid)-Schicht (PAH) aufgebracht. Diese Zyklen werden abwechselnd in Abhängigkeit von der gewünschten Zahl der Schichten wiederholt. Nach dem Zentrifugationszyklus am Ende des Aufbaus der letzten Schicht werden 1 ml einer 0,1 n-Salzsäure zugegeben. Nach etwa 5 min Schütteln erhält man eine klare Lösung, da die durch die Partikel verursachte Trübung der Lösung verschwunden ist. Anschließend zentrifugiert man für etwa 10 min bei 10 000 U/min. Bei dieser Zentrifugation scheidet sich ein feiner, leicht milchig wirkender Bodensatz ab, der die gebildeten Polyelektrolythüllen enthält. Bereits ein leichtes Schütteln nach Zusatz von Wasser ist ausreichend um die Hüllen zu resuspendieren. Nach zwei weiteren Zentrifugationsschritten erhält man eine gereinigte, 3%-ige Dispersion von sphärischen, monodispersen Polyelektrolythüllen in Wasser. Eine Probe dieser Hüllen kann wie oben beschrieben durch Rasterelektronen-, Transmissions- und/oder Atomkraftmikroskopie untersucht werden.

Beispiel 8

1,59 mg Na-Polystyrolsulfonat (PSS) werden einer Dispersion von teilvernetzten Melaminformaldehydpartikeln in 0,5 M NaCl zugesetzt. Die MF-Dispersion enthält insgesamt $2,2 \times 10^8$ Partikel. Nach zwanzigminütigem leichtem Schütteln werden 0,81 mg Polyallylaminhydrochlorid zugesetzt. Nach wiederum 20 min werden unter leichtem Schütteln wiederum 1,59 mg PSS zugegeben. Diese Vorgehensweise wird 5x mit jeweils einer PAH- und einer PSS-Zugabe wiederholt. Man erhält dadurch Melaminformaldehydpartikel, die mit 13 alternierenden Schichten bedeckt sind. Durch Zugabe von 10 ml 1 N-Salzsäure wird der pH-Wert erniedrigt, so daß sich die MF-Kerne auflösen. Durch die Zentrifugation bei 15 000 g für 15 min werden die Polyelektrolythüllen vom Überstand abgetrennt.

Beispiel 9

Ein sorgfältig gereinigter Glasträger wird 5 min in eine wäßrige Lösung von 0,5 mg/ml Polyethylenimin eingetaucht. Danach bläst man den Glasträger in einem Stickstoffstrom trocken. 100 µl einer 3%-igen Dispersion aus teilvernetzten Melaminformaldehydpartikeln mit einer Partikelgröße von 1 µm Durchmesser werden mit 400 µl einer 20 mono-mM Na-Poly(styrolsulfonat)-Lösung NaCl versetzt. Nach 5 min unter leichtem Schütteln wird 1 ml reines Wasser zugesetzt. Nach Zentrifugation bei 2000 U/min wird der Überstand decantiert, das Sediment mit reinem Wasser aufgefüllt und die Zentrifugation wiederholt. Nach abermaligem Decantieren und einem weiteren Zentrifugationszyklus erhält man mit einer PSS-Schicht bedeckte MF-Partikel. Anschließend gibt man 40 µl einer 20 mono-mM-Polydiallyldimethylammoniumchloridlösung in 0,5 M NaCl zu den Partikeln und inkubiert für 20 min. Diesen Vorgang wiederholt man ein zweites Mal. Anschließend werden die Partikel wiederum wie oben beschrieben mit PSS beschichtet und dreimal zentrifugiert. Das Sediment wird in 0,5 ml reinem Wasser redispersiert und auf den Glasträger aufgebracht. Nach 5 min taucht man den Glasträger für 5 min in eine 0,1 N-Salzsäurelösung. Danach taucht man das Glasplättchen ohne Zwischentrocknung für jeweils 5 min dreimal in reines Wasser. Danach wird das Glasplättchen in einem leichten Stickstoffstrom getrocknet. Als Resultat erhält man dichtgepackte, auf einem Polyethylenimin-beschichteten Glasträger fixierte Polyelektrolythüllen, die aus 5 Schichten bestehen.

Beispiel 10

100 µl einer 2%-igen Dispersion aus teilvernetzten Melaminformaldehydpartikeln mit einer Partikelgröße von 0,9 µm Durchmesser werden mit 400 µl einer 0,5 M NaCl-Lösung, pH 6, versetzt, die 0,5 mg/ml Polymilchsäure enthält. Nach 5 min unter leichtem Schütteln wird 1 ml reines Wasser zugesetzt. Nach Zentrifugation bei 2000 U/min (5 cm Rotorradius) wird der Überstand decantiert, reines Wasser aufgefüllt und die Zentrifugation wiederholt. Nach abermaligem Decantieren und einem weiteren Zentrifugationszyklus werden mit einer Polymilchsäureschicht bedeckte Melaminpartikel erhalten. Diese werden mit 0,4 ml einer 1 mg/ml Lysozymlösung bei pH 6,0 versetzt und für 20 min bei leichtem Schütteln inkubiert. Anschließend wird dreimal in reinem Wasser gewaschen. Bei pH 6 wird eine weitere Polymilchsäureschicht wie oben beschrieben aufgebracht. Anschließend wird eine Poly(allylaminhydrochlorid)schicht (PAH) aufgebracht, danach weitere Schichten in der Folge PSS/PAH/PSS.

Anschließend überführt man die Partikel in eine 0,1 n-Salzsäurelösung. Nach wenigen Sekunden bilden sich unter Auflösung der Kerne und der zwei Polymilchsäureschichten mit Lysozym gefüllte 900 nm große Polyelektrolythüllen aus. Diese werden zweimal bei 15 000 g in reinem Wasser zentrifugiert. Der Überstand wird jeweils verworfen. Man erhält als Sediment konzentrierte, mit Lysozym (Protein) gefüllte Kapseln, die eine Polyelektrolythülle aus 4 Schichten aufweisen.

Patentansprüche

1. Kapsel, mit einer Polyelektrolythülle und einem Durchmesser $< 10 \mu\text{m}$.
2. Kapsel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie einen Durchmesser $\leq 5 \mu\text{m}$ aufweist.
3. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet, daß die Hülle mehrere Polyelektrolytschichten umfaßt.

4. Kapsel nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Hülle abwechselnde Schichten von kationischen und anionischen Polyelektrolyten umfaßt.

5. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß innerhalb der Hülle eine Flüssigphase vorliegt.

6. Kapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß sie einen Wirkstoff umfaßt.

7. Kapsel nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ausgewählt ist aus einem Katalysator, einem Enzym, einem Nanopartikel, einem pharmazeutischen Wirkstoff, einem Sensormolekül oder einem Kristall.

8. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens eine Polyelektrolytschicht Poren enthält.

9. Kapsel nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Poren durch Nanopartikel mit anionischen und/oder kationischen oder/und grenzflächenaktiven Substanzen, insbesondere Tenside oder/und Lipide gebildet werden.

10. Kapsel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Stärke der Hüllwand 2 bis 100 nm beträgt.

11. Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie mehrere Kapseln nach einem der vorhergehenden Ansprüche mit monodisperser Größenverteilung enthält.

12. Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie Kapseln nach einem der Ansprüche 1 bis 10 in getrockneter Form enthält.

13. Verfahren zur Herstellung von Kapseln mit einem Durchmesser $< 10 \mu\text{m}$ umfassend die Schritte:

- a) Bereitstellen einer wäßrigen Dispersion von Templatpartikeln geeigneter Größe und
- b) Herstellen einer Hülle um die Partikel durch Aufbringen von Polyelektrolyten auf die Templatpartikel.

14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß als Templatpartikel teilvernetzte Melaminformaldehydpartikel verwendet werden.

15. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, daß vorgeformte Aggregate von Subpartikeln als Templatpartikel zur Beschichtung mit Polyelektrolyten verwendet werden.

16. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß die vorgeformten Aggregate durch Anlegen elektrischer Felder auf eine Suspension mit Subpartikeln hergestellt werden.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche, 13 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß nacheinander Schichten von jeweils entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten aufgebracht werden.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 bis 17 weiterhin umfassend den Schritt

(c) Desintegration der Templatpartikel.

19. Verfahren nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß die Desintegration der Templatpartikel durch eine Veränderung des pH-Werts oder/und Sulfonierung der Templatpartikel bewirkt wird.

20. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 bis 19, weiterhin umfassend den Schritt:

d) Abtrennen von Templatpartikel-Fragmenten.

21. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß die Kapsel mit einer Wirksubstanz beladen wird.

22. Verfahren nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß die Kapsel durch Poren in der Hüllwand mit niedermolekularen Stoffen beladen wird.

23. Verfahren nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, daß die einzubringende Substanz an die Templatpartikel vor dem Aufbringen von Polyelektrolyten immobilisiert wird. 5

24. Verfahren zur Herstellung einer beschichteten Oberflächen, dadurch gekennzeichnet, daß mit Polyelektrolyten beschichtete Templatpartikel oder/und Kapseln nach einem der Ansprüche 1 bis 12 oder erhältlich nach einem der Ansprüche 13 bis 24 an eine Oberfläche adheriert werden. 10

25. Verwendung von Kapseln nach einem der Ansprüche 1 bis 12 oder erhältlich nach einem der Ansprüche 13 bis 24 zum Einschluß von Wirkstoffen. 15

26. Verwendung nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ausgewählt wird aus Katalysatoren, Enzymen, pharmazeutischen Wirkstoffen und Sensormolekülen. 20

27. Verwendung von Kapseln nach einem der Ansprüche 1 bis 12 oder hergestellt nach einem der Ansprüche 13 bis 24 als Reaktionsraum.

28. Verwendung von Kapseln nach einem der Ansprüche 1 bis 12 oder hergestellt nach einem der Ansprüche 13 bis 24 zur Herstellung von Kristallen. 25

29. Verwendung von Kapseln nach einem der Ansprüche 1 bis 12 oder hergestellt nach einem der Ansprüche 13 bis 24 zum Aufbau von Mikro- bzw. Nanokompositen. 30

30. Teilvernetzte Melaminformaldehydpartikel mit einem Durchmesser 10 µm.

31. Partikel nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, daß sie vorgeformte Aggregate aus Subpartikeln enthalten. 35

32. Partikel nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine sphärische Form aufweisen.

33. Partikel nach einem der Ansprüche 30 bis 32, dadurch gekennzeichnet, daß sie durch Einstellen eines sauren pH-Werts oder/und durch chemische Reaktion auflösbar sind. 40

34. Partikel nach einem der Ansprüche 30 bis 33, dadurch gekennzeichnet, daß sie weiterhin immobilisierte Wirkstoffe und gegebenenfalls einen Bindevermittler enthalten. 45

35. Verwendung der Partikel nach einem der Ansprüche 30 bis 34 zur Herstellung von Nano- oder Mikrokapseln, insbesondere mit einer Polyelektrolythülle.

36. Verfahren zur Herstellung von teilvernetzten Melaminformaldehydpartikeln durch Polykondensation aus Melaminformaldehydpräkondensaten, dadurch gekennzeichnet, daß der Polykondensationsprozeß während der Reaktion unterbrochen wird. 50

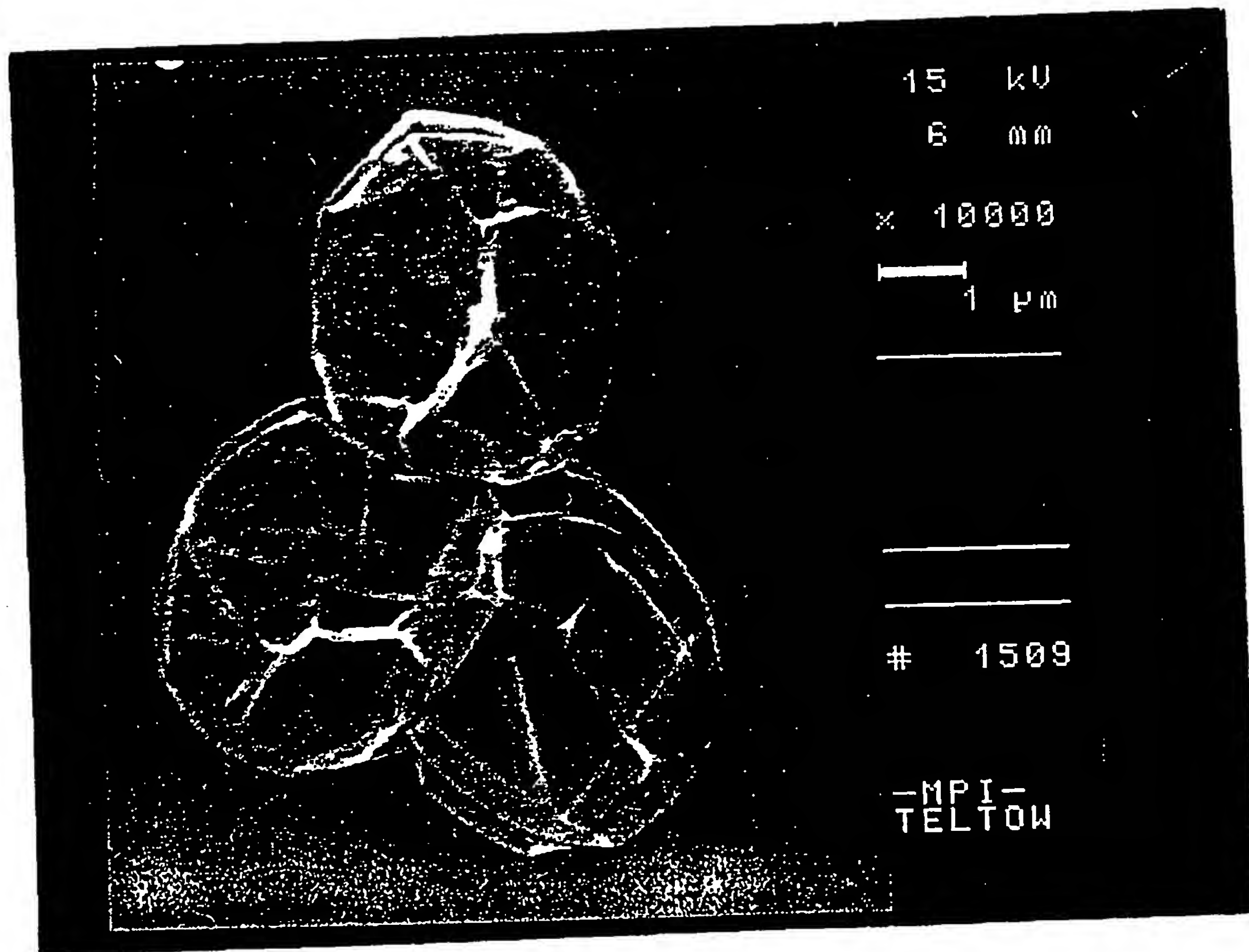
Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

55

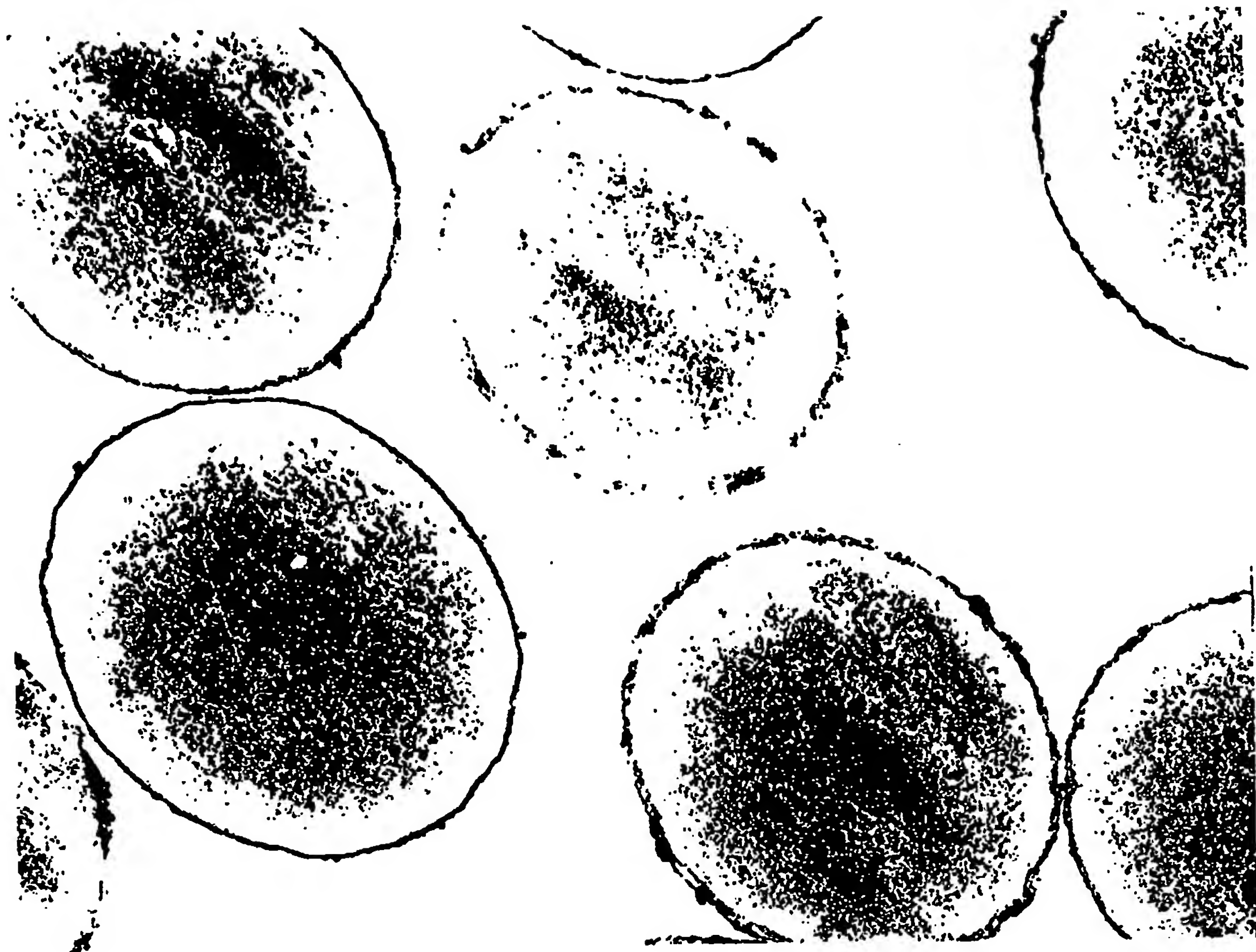
60

65

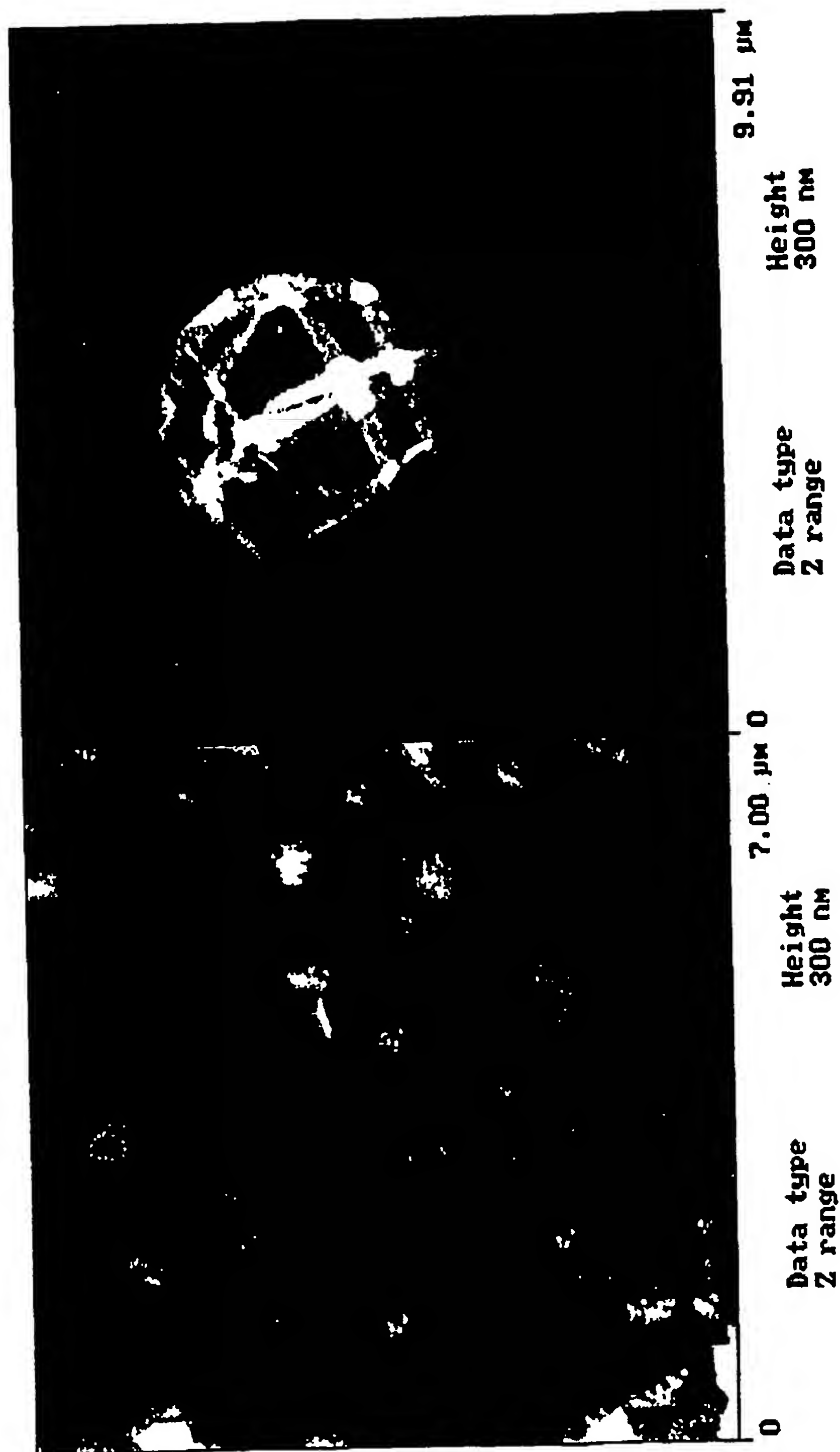
Figur 3



Figur 4



Figur 5



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.